Lane Medical Library
STANFORD UNIVERSITY
MAR
8
1938
LIBRARY

Vergleichende Untersuchungen über das Bact. acetylcholini und Enterokokken

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ruprecht-Karl-Universität zu Heidelberg

vorgelegt von

Werner Barck
approb. Zahnarzt aus Karlsruhe

Karlsruhe 1937
Macklotsche Druckerei und Verlag

Vergleichende Untersuchungen über das Bact. acetylcholini und Enterokokken

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ruprecht-Karl-Universität zu Heidelberg

vorgelegt von

Werner Barck
approb. Zahnarzt aus Karlsruhe

Karlsruhe 1937
Macklotsche Druckerei und Verlag

Gedruckt mit Genehmigung der

Medizinischen Fakultät der Universität Heidelberg

Dekan: Prof. Dr. Schneider

Referent: Prof. Dr. Habs

1937

Aus dem Hygienischen Institut (Direktor: Prof. Dr. E. Rodenwaldt) und dem Pharmakologischen Institut (Direktor: Prof. Dr. F. Eichholtz) der Universität Heidelberg

Meinen lieben Eltern

I.

Bei Untersuchungen über die biologische Einsäuerung von Futtermitteln konnte Keil feststellen, daß in den Silagen Acetylcholin enthalten ist. Es gelang weiter die Feststellung, daß die Acetylcholinbildung durch eine bestimmte Bakterienart hervorgerufen wird, die gleichzeitig durch eine besonders intensive Milchsäuregärung ausgezeichnet ist. Dies Bakterium wurde als Bact. acetylcholini bezeichnet (Keil). Die Bedeutung dieser Bakterienart für den Silageprozeß ist durch Eichholtz und Keil, sowie Eichholtz und Brehm beschrieben worden. Weitere im Pharmakologischen Institut Heidelberg ausgeführten Arbeiten befassen sich mit für den Silagevorgang wichtigen Eigenschaften dieses Bakteriums (Möller und Ferdinand, Vollherbst).

In Untersuchungen von Thoma gelang der Nachweis, daß das Bact. acetylcholini nicht nur im Darm von Ratten wiederzufinden ist, die mit Reinkulturen gefüttert wurden, sondern daß es sogar im Darm der normal gefütterten Ratte vorhanden sein kann. Ebenso konnte es gelegentlich aus der Mundhöhle und aus dem Kot vom Menschen gezüchtet werden. Durch diese Befunde wurde die Frage aufgeworfen, ob dies Bakterium vielleicht mit einer der bekannten Darmbakterienarten identisch sei. Nachdem schon Thoma darauf hinweisen konnte, daß nach dem morphologischen und kulturellen Verhalten Beziehungen zu den sogenannten Enterokokken bestehen, ging Behr der Frage der systematischen Einordnung der neugefundenen Bakterienart eingehender nach.

Behr untersuchte 20 acetylcholin-bildende Stämme, von denen 16 aus Silagen, einer aus Darminhalt der Ratte, einer aus der Mundhöhle und 2 aus dem Kot vom Menschen stammten. Behr konnte feststellen, daß diese Stämme verschiedenster Herkunft sich in ihren Eigenschaften weitgehend ähnlich waren. Sie gehören zu den Milchsäurestreptokokken und sind nach ihrem kulturellen Verhalten, insbesondere nach der Fähigkeit Aeskulin zu spalten und nach der charakteristischen

Veränderung der Lackmusmilch, unter Berücksichtigung der Nomenklatur in der medizinischen Bakteriologie zu den sogenannten „Enterokokken“ zu rechnen. Aber, wie aus weiteren Untersuchungen von Habs hervorgeht, nur ein Teil der Enterokokken, die aus Darminhalt oder aus Milch gezüchtet werden, besitzt die Fähigkeit der Acetylcholinbildung. Die acetylcholinbildenden Stämme und diejenigen, denen diese Fähigkeit fehlt, sind durch sonstige differentialdiagnostische Methoden nicht zu trennen. Als Besonderheit erschien lediglich die Tatsache, daß die Acetylcholinbildner auf den in der medizinischen Bakteriologie üblichen Nährböden mit Fleischwasser und Pepton als Grundlage verhältnismäßig langsam wachsen.

Nach diesen Untersuchungen blieb noch die Frage offen, welcher Art die Beziehungen des Bact. acetylcholini zu den Enterokokken sind. Es besteht einerseits die Möglichkeit, daß das Bact. acetylcholini eine wohlcharakterisierte, konstante Art bezw. eine selbstständige Unterart der Enterokokken ist. Andererseits ist auch damit zu rechnen, daß es sich lediglich um eine Standortsmodifikation handelt, daß also ein Bakterienstamm unter den Bedingungen der Säuerung pflanzlicher Produkte die Eigenschaft der Acetylcholinbildung aufweist, während er sie bei der Anpassung an das Leben im Tierkörper verliert.

Die Beantwortung dieser Frage liegt nicht allein im Interesse der theoretischen Bakteriologie und der Variabilitätsforschung. Sie ist vielmehr auch wichtig für die weitere Frage nach der Herkunft dieser Bakterien beim Silageprozeß. Wenn die Acetylcholinbildner nur eine Modifikationsform der Enterokokken sind, so kann angenommen werden, daß sie mit tierischen Abfallstoffen — etwa bei der Düngung — an die Pflanzenteile gelangen, die später der Einsäuerung unterworfen werden. Handelt es sich dagegen um eine spezifische Bakterienart, so besteht die Wahrscheinlichkeit, daß diese Bakterien ihren ständigen Aufenthaltsort im Freien außerhalb des tierischen Körpers haben und im Haushalt der Natur etwa bei der Verrottung von Pflanzen eine Rolle spielen, daß sie dagegen nur sekundär in den Verdauungskanal des Menschen und der Tiere gelangen.

Um zu diesen Fragen Stellung nehmen zu können, wurden von mir Variabilitätsuntersuchungen ausgeführt, in denen festgestellt werden sollte, ob die acetylcholinpositiven Stämme

in acetylcholinnegative umgezüchtet werden können und umgekehrt. Hierbei wurde von der Annahme ausgegangen, daß eine Umzüchtung eines acetylcholinnegativen Stammes in einen acetylcholinpositiven am ehesten dann gelingen würde, wenn er auf einem pflanzlichen Medium in Passagen fortgezüchtet würde, das sich als besonders geeignet für die Acetylcholinbildung erwiesen hatte (Gurkensaft), während andererseits zur Umzüchtung acetylcholinpositiver in -negative Stämme ein Nährboden in Betracht kommen müsse, der aus tierischem Substrat hergestellt ist (Fleischwasser-Pepton-Bouillon).

II.

Für meine Versuche wurden folgende Kulturen ausgewählt:

1. Eine Gruppe acetylcholinnegativer Stämme, die aus dem tierischen oder menschlichen Körper stammten, und zwar
   a) 5 Milchstämme: M 1 bis M 5. Sie waren im Juli 1936 aus roher Sammelmilch durch direkte Aussaat auf Blutplatten gezüchtet worden. Die damals vorgenommene Prüfung auf Acetylcholin war negativ ausgefallen.
   b) 5 Kotstämme: St 1, St 2, St 4, St 6, St 7. Sie waren im Juni 1936 aus Stuhlproben von Personen ohne krankhaften Befund gezüchtet worden. Die ersten 4 Stämme waren von direkten Aussaaten der Stuhlproben auf Blutplatten isoliert worden, während die Züchtung des Stammes St 7 erst nach vorhergehender Anreicherung des Kotes in Sodalösung erfolgte. Die nach der Isolierung vorgenommene Prüfung auf Acetylcholinbildung war negativ ausgefallen.
2. Eine Gruppe typischer Stämme des Bact. acetylcholini, die aus den Versuchen des Pharmakologischen Institutes bekannt waren. Es handelt sich um 7 Stämme:
   Si 4 aus Bohnen, Fabrikat Handschuhsheim (Krauth).
   Si 6 aus Bohnen, Fabrikat Wieblingen, (Schaich).
   Si 9 aus Gurken, Fabrikat Schreiber, Mannheim.
   Si 10 aus Gurken, Fabrikat Wecker, Heilbronn (Stieglitz).
   Si 11 aus Sauerkraut, Fabrikat Echterdingen (Stieglitz).
   Si 19 aus Rübenschnitzel, Fabrikat Büttnerwerke, Ürdingen.
   Si Norw aus Weißkrautsilage (aus Oslo).

3. Eine Gruppe von 6 zusammengehörigen Kotstämmen (St 11 b bis St 11 g). Diese Stämme waren aus einer bestimmten menschlichen Stuhlprobe gezüchtet worden unter Benutzung verschiedener Anreicherungs- und Züchtungsmethoden. Von diesen Stämmen aus dem gleichen Material hatten die Stämme St 11 b und St 11 c eine negative, die übrigen eine positive Acetylcholinprobe ergeben. Wir hielten gerade die Untersuchung dieser Stämme für wichtig, da bei ihnen am ehesten die Möglichkeit bestehen konnte, daß sie in ihren Eigenschaften nicht völlig gefestigt seien und deshalb besonders günstige Bedingungen zur Umzüchtung bieten würden.

Vor Beginn der Variabilitätsuntersuchungen wurden die Stämme noch einmal auf ihr morphologisches und kulturelles Verhalten geprüft.

Die mikroskopische Untersuchung ergab das auch von Behr beschriebene ziemlich wechselvolle Bild: Grampositive Kokken, meist als Diplokokken, z. T. in Ketten gelagert; die einzelnen Bakterien meist oval, nicht selten aber auch stäbchenförmig, dabei öfters in der gleichen Kette runde und stäbchenförmige Keime. Zwischen den einzelnen Stämmen bestand kein wesentlicher Unterschied.

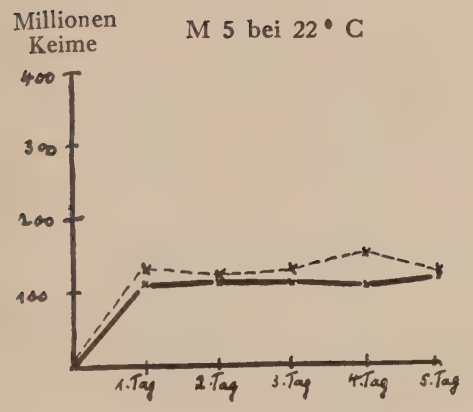
Auf Blutagarplatten wuchsen nach 2tägiger Bebrütung bei 22° C meist sehr kleine, selten bis zu 1 mm Durchmesser große Kolonien von glatter runder Form und glatter Oberfläche und milchig-grauer Farbe. Der Blutagar wurde z. T. kaum, z. T. deutlich verändert, und zwar bei den Stämmen Si 4, Si 6, St 11 c, St 11 g, M 1 im Sinne einer Aufhellung, bei St 11 e und St 11 f im Sinne einer Vergrünung, bei den übrigen Stämmen in Richtung auf eine leichte Schwarzfärbung.

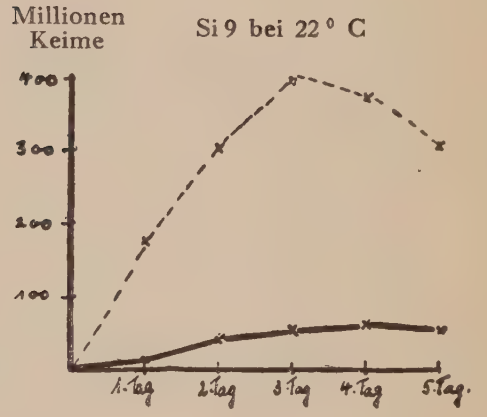
Aeskulin wurde von allen Stämmen innerhalb 48 Stunden gespalten; bei der Eisenzitratreaktion trat also eine Schwarzfärbung auf.

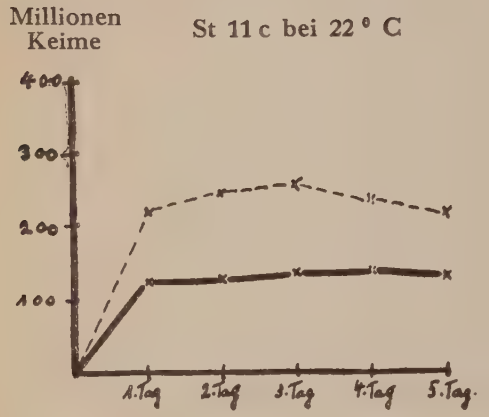
Lackmusmilch wurde von allen Stämmen mehr oder weniger entfärbt und nach 2 bis 5 Tagen zur Gerinnung gebracht. Die Silagestämme gingen in der Lackmusmilch schwerer an als die übrigen Stämme und führten langsamer zur Gerinnung, die bei den Stämmen Si 10, Si 11, Si 19, Si Norw nur als dünnbreiig zu bezeichnen war. Bei den Stämmen der dritten Gruppe war kein Unterschied zwischen den acetylcholinpositiven und -negativen zu bemerken.

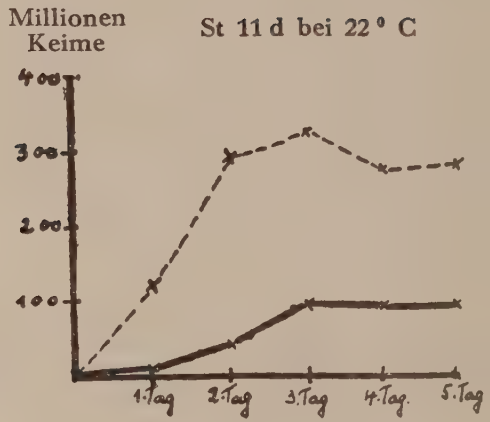
—— Bouillon
------ Gurkensaft

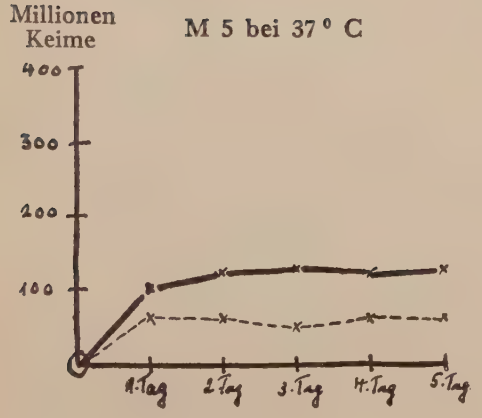
Die Zahlen der Ordinate bedeuten Millionen Keime in 1 ccm des Nährbodens

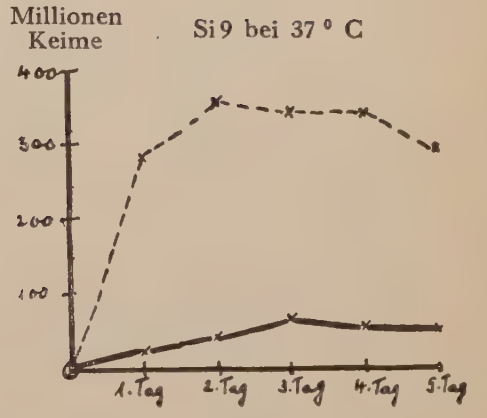


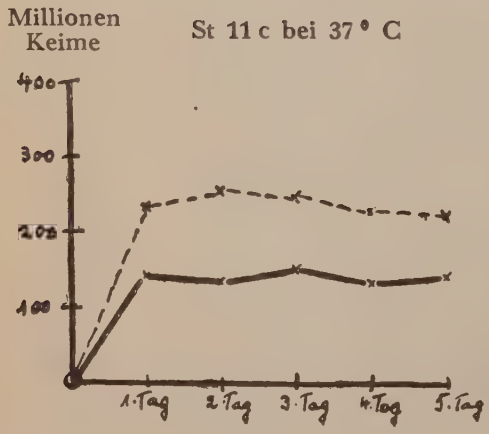


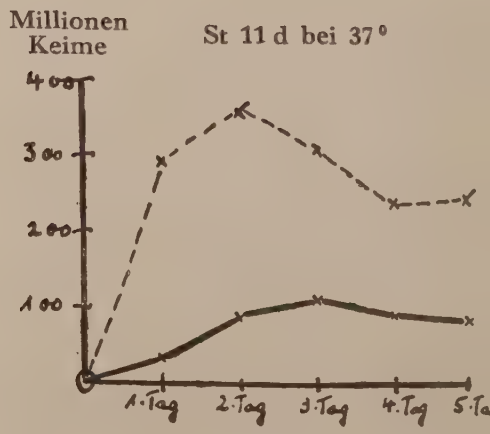












Das Ergebnis dieser Voruntersuchung entsprach also der Erwartung; die Stämme verhielten sich, abgesehen von Unterschieden in der Intensität ihres Wachstums, gleich.

III.

Entsprechend den in der Einleitung gemachten Ausführungen wurden unsere Versuche derart angeordnet, daß die verschiedenen Stämme in fortlaufenden Passagen einerseits auf einem pflanzlichen, andererseits auf einem tierischen Substrat gezüchtet wurden.

Als pflanzlicher Nährboden wurde Gurkensaft gewählt, da dieser nach den früheren Untersuchungen des Pharmakologischen Institutes besonders günstige Bedingungen für das Wachstum des Bact. acetylcholini bietet. Der Gurkensaft war gewonnen worden, indem die Früchte durch eine Fleischmaschine getrieben wurden. Zu 50 l dieses Saftes wurden 5 l Kieselgur zugefügt, das Ganze wurde aufgekocht, durch Kieselgur abgesaugt, und eine Stunde im Dampftopf sterilisiert. Gegebenenfalls wurde nochmals filtriert und sterilisiert.

Der Gurkensaft stellt also ein pflanzliches, zuckerreiches Nährmedium dar. Die in ihm enthaltenen spezifischen wachstumsfördernden Stoffe sind noch nicht bekannt. Die Reaktion des von uns verwendeten Saftes lag bei pH 5,2.

Die zum Versuch benutzten Stämme riefen bei einer Bebrütungstemperatur von 22° C im Gurkensaft eine hochstehende Trübung hervor; nach einigen Tagen klärte sich der obere Teil. Beim Umschütteln erhob sich ein meist schlierenbildender Bodensatz, der nur bei den Stämmen M 2, St 1, St 7, St 11 b mehr als körnig zu bezeichnen war. Die acetylcholinpositiven Silagestämme wuchsen deutlich üppiger als die acetylcholinnegativen Kot- und Milchstämme, von denen die Stämme M 2, St 2, St 6, St 7 ein besonders schlechtes Wachstum zeigten. Zwischen den acetylcholinnegativen Stämmen 11 b und 11 c einerseits und den acetylcholinpositiven 11 d bis 11 g andererseits bestanden dagegen keine deutlichen Unterschiede.

Die Prüfung auf Acetylcholin wurde im Pharmakologischen Institut nach dem dort bewährten Verfahren vorge-

nommen. Sie erfolgte durch Aufspritzen der mindestens 5 Tage bebrüteten Gurkensaftkulturen auf einen in Tyrodelösung überlebenden Rattendarm. Enthält der Gurkensaft Acetylcholin, so tritt eine Kontraktion der glatten Muskulatur ein. Die Prüfung auf Acetylcholinbildung fiel bei Beginn unserer Versuche entsprechend den früheren Untersuchungen an den gleichen Stämmen aus.

Als Nährboden auf tierischer Grundlage wurde eine Nährbouillon ohne Zuckerzusatz mit einem pH-Wert von 7,4 gewählt. Und zwar kam die Standard I-Nährbouillon der Firma Merk, Darmstadt, zur Anwendung, die Fleischextrakt, Pepton und Kochsalz enthält. Dieses Substrat bietet also den Bakterien völlig andere Lebensbedingungen als der Gurkensaft und verlangt andere fermentative und stoffwechselphysiologische Leistungen.

Die Bouillon wurde von allen Stämmen nach 2—3 Tagen getrübt. Die Wachstumsintensität war etwas unterschiedlich, indem die acetylcholinnegativen Bakterien sich in den ersten 3 Tagen durchgehend schneller vermehrten als die acetylcholinpositiven. Es bildete sich ein beim Schütteln meist in Schlieren, nur bei Stamm M 2, St 6, Si 9, Si 11 in körniger Form aufsteigender Bodensatz. Nach 3 – 7 Tagen klärte sich die Bouillon.

Jeder Stamm wurde entsprechend dem Arbeitsplan einerseits in Passagen von Bouillon zu Bouillon, andererseits in Passagen von Gurkensaft zu Gurkensaft fortgeführt. Die Bebrütung erfolgte jeweils über 3—4 Tage bei 22° C. Im ganzen wurden 16 Passagen vorgenommen; die Gesamtzüchtungsdauer betrug also ungefähr 60 Tage.

Nach je 4 Passagen erfolgte eine Prüfung auf Acetylcholinbildung. Und zwar wurde bei den anfänglich acetylcholinnegativen Stämmen der Gurkensaft der betreffenden Passage nach 5tägiger Bebrütung geprüft, bei den anfangs acetylcholinpositiven Stämmen wurde aus der in Frage kommenden Bouillonpassage ein Gurkensaftröhrchen geimpft und dieses nach 5tägiger Bebrütung geprüft.

Nach Abschluß der 16 Passagen wurde die Prüfung auf Acetylcholinbildung in allen Versuchsreihen vorgenommen. Dabei zeigte sich ebenso wie bei den Zwischenprüfungen, daß die Kulturen keinerlei Unterschiede gegenüber den Ausgangskulturen aufwiesen.

Die Acetylcholinbildner aus Silage und ebenso die positiven Koststämme St 11 d—g zeigten Acetylcholinbildung so-

wohl nach 16 Gurkensaftpassagen wie nach 16 Bouillonpassagen mit anschließender Überimpfung in Gurkensaft.

Umgekehrt waren die acetylcholinnegativen Milch- und Kotstämme auch nach 16 Gurkensaftpassagen acetylcholinnegativ geblieben.

Eine Variation hatte sich also nicht erzielen lassen; die Acetylcholinbildung war durch die Passagen in den verschiedenen Nährböden nicht beeinflußt worden.

Soweit eine rein makroskopische Beurteilung möglich war, schien es auch, als ob die unterschiedliche Wachstumsgeschwindigkeit zwischen acetylcholinpositiven und acetylcholinnegativen Stämmen unverändert geblieben wäre. Hiernach konnte angenommen werden, daß die Ausnutzung des Gurkensaftes durch die Acetylcholinbildner besser ist als durch die typischen Enterokokken. Um hierfür einen Anhalt zu bekommen, wurde in den Gurkensaftröhrchen der 16ten Passage nach 5tägiger Bebrütung die Wasserstoffionenkonzentration gemessen. Sie wurde mit der Apparatur nach R o e d e r (Hersteller Dr. N. Gerber & Co., Leipzig) bestimmt.

Es wurden folgende Werte gefunden:

Bei Gruppe 1 (acetylcholinnegative Kot- und Milchstämme):

2 Stämme	pH 4,2
3 Stämme	4,3
3 Stämme	4,4
1 Stamm	4,5
Mittelwert	pH 4,33

Bei Gruppe 2 (acetylcholinpositive Silagestämme):

1 Stamm	pH 3,8
5 Stämme	3,9
1 Stamm	4,0
Mittelwert	pH 3,9

Zwischen diesen beiden Gruppen besteht also ein deutlicher, wenn auch nicht sehr großer Unterschied. Dieser wurde auch innerhalb der Gruppe 3 gefunden:

Die beiden acetylcholinnegativen Stämme zeigten pH-Werte von 4,3, die vier positiven Stämme dagegen solche von 3,8; 3,9; 4,0; 4,0.

Aus dem Ergebnis dieses Versuches muß geschlossen werden, daß auch nach 16 Gurkensaftpassagen die Differenzen im Stoffwechsel zwischen beiden Bakteriengruppen fortbestehen.

IV.

Die zuletzt erwähnten Befunde gaben Veranlassung, an einigen Stämmen ausführlich die Wachstumsgeschwindigkeit in Gurkensaft einerseits, in Fleischbouillon andererseits zu prüfen.

Die hierzu erforderlichen Keimzählungen wurden mikroskopisch mit der Blutkörperchenzählkammer nach T h o m a - Z e i s s durchgeführt. Zur Zählung wurden Verdünnungen der Kulturen hergestellt, die so gewählt waren, daß in einem kleinen Quadrat der Zählkammer zwischen 5 und 25 Keime lagen. Ausgezählt wurden jeweils 10 kleine Quadrate. Jede Zählung wurde einschließlich der vorhergehenden Verdünnung doppelt ausgeführt. Eine Auswertung der Doppelzählung ergab, daß mit einem Zählfehler von ungefähr 7 % zu rechnen ist. Die Zahlen sind also unter sich sehr gut vergleichbar.

Als acetylcholinnegativer Stamm wurde der Stamm M 5 verwendet. Bei Züchtung in Gurkensaft bei 22° C ergibt sich (vergl. Kurve!), daß nach 24 Stunden eine Keimzahl von 134 Millionen pro ccm erreicht wird, die in den folgenden Tagen fast unverändert bleibt. Die Kurve bei Züchtung in Bouillon verläuft ganz ähnlich. Bereits nach einem Tag ist ein Wert von 112 Millionen pro ccm erreicht, der in den nächsten Tagen nicht mehr überschritten wird.

Vergleichen wir damit den Stamm Si 9 als Vertreter der acetylcholinpositiven Stämme, so ergibt sich ein völlig anderes Bild. Im Gurkensaft ist nach dem 1. Tag bereits ein Wert von 170 Millionen im ccm erreicht, dem am 3. Tage mit 395 Millionen im ccm ein Höhepunkt folgt, der das dreifache des Wertes für den Stamm M 5 darstellt. In Bouillon erfolgt dagegen ein langsames und recht kümmerliches Wachstum, das nach 4 Tagen mit 61 Millionen im ccm sein Maximum findet.

Der Unterschied zwischen den beiden Stämmen liegt vor allem im Wachstum im Gurkensaft, der für den Silagestamm wesentlich bessere Vermehrungsbedingungen bietet als für den Milchstamm.

Es war mit der Möglichkeit zu rechnen, daß die Differenzen in der Wachstumsgeschwindigkeit bei einer Züchtungstemperatur von 37° C noch deutlicher in Erscheinung treten würden. Dies war in gewissem Sinn auch der Fall. Die beiden Wachstumskurven in Bouillon gleichen zwar denen bei 22° C vollständig. Im Gurkensaft wird die Differenz dagegen noch

intensiver, indem der Silagestamm sein Maximum bereits nach 2 Tagen erreicht, während andererseits der Milchstamm überhaupt nur auf eine Keimzahl von 68 Millionen im ccm kommt.

In Übereinstimmung mit der Verschiedenheit der Keimzahlen steht auch hier das Ergebnis der pH-Bestimmungen. In den Bouillonkulturen finden sich — wie zu erwarten — keine wesentlichen Differenzen. Der Gurkensaft wird aber von Stamm Si 9 bis pH 4,0 am 5. Tag gesäuert, von Stamm M 5 nur bis pH 4,6.

Die Untersuchungen an diesen beiden Stämmen können als charakteristisch für die beiden Gruppen der acetylcholinnegativen Milch- und Kotstämme und der acetylcholinpositiven Silagestämme gelten.

Relativ gering waren die äußerlich sichtbaren Unterschiede im Wachstum zwischen den negativen und positiven Stämmen der Gruppe 3 (aus einer Stuhlprobe gezüchtete Stämme). Wir haben deshalb auch bei dem acetylcholinnegativen Stamm 11 c und dem -positiven Stamm 11 d vergleichende Keimzählungen vorgenommen. Der Stamm 11 d verhält sich ganz ähnlich dem Stamm Si 9, nur werden in Bouillon etwas höhere Endwerte erreicht. Der Stamm 11 c zeigt in Bouillon Keimzahlen, die etwas höher liegen als die des Stammes M 5. In Gurkensaft vermehrt sich dieser acetylcholinnegative Stamm zwar wesentlich besser als der Milchstamm, erreicht aber nicht die Werte der acetylcholinpositiven Stämme. Dem entspricht es auch, daß Stamm 11 c auf einen pH-Wert von 4,5 kommt und Stamm 11 d auf einen solchen von 4,1. Die Vermehrungskurven für Stamm 11 c in Bouillon- und Gurkensaft liegen viel dichter zusammen als diejenigen des Stammes 11 d.

Damit ist also nachgewiesen, daß zwischen den acetylcholinpositiven und -negativen Stämmen Unterschiede in den Wachstumsbedingungen bestehen, die sich noch nach zahlreichen Passagen unverändert erhalten haben.

V.

Die Ergebnisse der Untersuchungen geben eine eindeutige Antwort auf die Fragestellungen, von denen meine Arbeit ausgegangen ist:

1. Die Acetylcholinbildung ist eine konstante Eigenschaft bestimmter Stämme. Diese Eigenschaft kann anderen Bakte-

rienstämmen, die sich auf den differentialdiagnostischen Nährböden völlig gleich verhalten (sogenannten Enterokokken), durch Passagen in optimalen Nährböden nicht angezüchtet werden.

Wenn Behr die Frage noch offen lassen mußte, ob die acetylcholinbildenden Stämme eine eigene Art oder nur eine Standortmodifikation der Enterokokken darstellen, so läßt sich auf Grund unserer Untersuchungen diese Frage in dem Sinn beantworten, daß die Acetylcholinbildner als besonderer Typ aufgefaßt werden müssen.

2. Für das Wachstum von Acetylcholinbildnern ist der natursaure Gurkensaft ein besseres Nährmedium als die Fleischbouillon, für die acetylcholinnegativen Enterokokken bietet dagegen der letztere günstigere Entwicklungsmöglichkeiten. Auch nach zahlreichen Passagen in Fleischbouillon zeichnen sich die acetylcholinpositiven Stämme vor den -negativen dadurch aus, daß sie im Gurkensaft eine höhere Keimzahl erreichen und ihn stärker säuern.

Diese Ergebnisse lassen sich dahin ausdeuten, daß das Bact. acetylcholini im Gegensatz zu den typischen sogenannten Enterokokken seinen primären Sitz nicht im Darmkanal des Menschen und der Tiere hat, sondern daß es vielleicht als Bodenbakterium in der freien Natur bei der Zersetzung abgestorbener Pflanzenteile eine Rolle spielt.

Das Ergebnis meiner Untersuchungen steht in völliger Übereinstimmung mit denen, die J. Mai gleichzeitig im Pharmakologischen Institut der Universität durchgeführt hat. Mai untersuchte zwei von Habs gezüchtete acetylcholinpositive Kotstämme (St 8 und St 9), sowie zwei acetylcholinnegative Kotstämme (St 4 und St 5). Der acetylcholinnegative Stamm St 5 zeichnete sich durch schwächeres Wachstum in Gurkensaft sowie durch schwächere Milchsäurebildung aus und ließ sich selbst durch 20 Passagen in Gurkensaft weder zur Acetylcholinbildung, noch zu stärkerem Wachstum und Milchsäurebildung bringen. Der Stamm St 4 nahm allerdings eine gewisse Übergangsstellung ein.

Bevor aber weitergehende Schlüsse über die biologische Bedeutung des Bakteriums — abgesehen von seiner Rolle bei der Einsäuerung der Nahrungs- und Futtermittel — gezogen werden können, wird es erforderlich sein, weitere Untersuchungen vorzunehmen zur Ergänzung der in der Arbeit von

Thoma mitgeteilten Befunde. Es ist noch festzustellen, wie das Vorkommen von Acetylcholinbildnern in der Mundhöhle und im Darmkanal von Menschen zu bewerten ist, ob es sich hier lediglich um eine vorübergehende Ausscheidung von den mit der Nahrung aufgenommenen Keimen handelt, oder ob es zu einer dauernden Ansiedlung dieser Keime kommt, die dann vielleicht auch hier eine biologische Rolle spielen. Ebenso würde es aussichtsreich sein, der Verbreitung dieses Bakteriums in der nicht vom Menschen willkürlich beeinflußten Natur nachzugehen, um zu sehen, ob es dort von ähnlicher Bedeutung ist wie bei der künstlichen Silage unserer Nahrungs- und Futtermittel.

Zusammenfassung

1. Das Bact. acetylcholini und die sogenannten Enterokokken unterscheiden sich nach den bisherigen Kenntnissen nur durch das Vorhandensein bezw. das Fehlen der Acetylcholinbildung. Es gelingt nicht, diese beiden Bakterienarten durch Passagen in verschiedenen Nährböden in einander umzuwandeln, d. h. ihnen die Fähigkeit zur Acetylcholinbildung zu nehmen oder anzuzüchten.
2. Auch nach längerer Züchtung in Bouillon oder in Gurkensaft bleibt als charakteristisches Unterscheidungsmerkmal zwischen beiden Bakterientypen die Tatsache betehen, daß das Bact. acetylcholini besser an das pflanzliche Nährmedium angepaßt ist, während die Enterokokken besser in Bouillon gedeihen.

Literatur

Behr, Dissertation, Heidelberg 1937.
Eichholtz und Brehm, Sitzungsberichte der Heidelberger Akademie der Wissenschaften. 1936.
Eichholtz und Keil, Chemikerzeitung 59, 1033. 1935.
Keil und Weyrauch, im Druck.
Mai, Dissertation, Heidelberg, 1937.
Möller, Arch. exp. Path. u. Pharm. 184. 1936.
Möller und Ferdinand, im Druck.
Thoma, Dissertation, Heidelberg, 1937.
Vollherbst, Dissertation, Heidelberg, 1937.

Lebenslauf

Am 15. Oktober 1913 wurde ich, Werner Barck, als Sohn des Oberrechnungsrates Paul Barck und seiner Ehefrau Wilhelmine, geb. Jung, in Karlsruhe i. B. geboren. Ich besuchte daselbst 4 Jahre die Volksschule und anschließend 9 Jahre das humanistische Gymnasium. Seit 1933 widmete ich mich nach bestandener Reifeprüfung dem Studium der Zahnheilkunde an den Universitäten Heidelberg und Freiburg. Im Sommer-Semester 1934 bestand ich das Physikum, im Herbst 1936 die zahnärztliche Hauptprüfung. Seit November vorigen Jahres befaßte ich mich mit vorliegender Doktorarbeit.

Herrn Professor Dr. Habs erlaube ich mir für die Überlassung der Arbeit und für die Unterstützung bei ihrer Durchführung meinen ergebenen Dank auszusprechen.